



## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **07145038 A**(43) Date of publication of application: **06 . 06 . 95**

(51) Int. Cl.

**A61K 9/127**  
**A61K 9/00**  
**A61K 9/107**  
**A61K 47/16**

(21) Application number: **05296932**(22) Date of filing: **26 . 11 . 93**(71) Applicant: **TERUMO CORP**

(72) Inventor:  
**KAWAHARA KAZUO**  
**UCHIYAMA HIDEKI**  
**SANADA KUNIO**  
**KAWANISHI TETSUAKI**  
**KIMURA JUNJI**

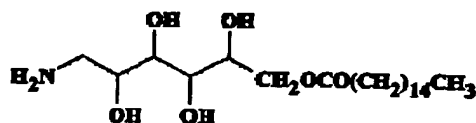
**(54) CONSTITUENT COMPONENT FOR MEMBRANE OF SMALL CLOSED CELL****(57) Abstract:**

**PURPOSE:** To obtain a constituent component for the membrane of a small closed cell, having a hydrophilic region containing one or more cationic residues and one or more hydrophilic groups at one end of the molecule and a hydrophobic region at the other end, and a medical carrier containing this component and including a medicine for diagnosing and improving an injured part of the vascular endothelium therein.

**CONSTITUTION:** This constituent component for the membrane of a small closed cell, e.g. palmitic acid glucamine ester of the formula has a hydrophilic region containing one or more cationic residues and one or more hydrophilic groups incapable of being recognized by a sugar chain-recognizing receptor, enzyme and lectin-like protein at one end of the molecule and a hydrophobic region at the other end. The constituent component gives a small closed cell an effect, e.g. for improving targeting properties to an injured part of the vascular endothelium. The component is low toxic and a medical carrier containing this constituent component is excellent in inclusion ratio of a neutral or anionic substance and remarkably excellent in safety. For example, in the case heparin as a polysaccharide or its sulfate is included, it is useful as a preventive agent

for vascular thickening, capable of inhibiting wandering of smooth muscle cells in an injured part of the vascular endothelium.

COPYRIGHT: (C)1995,JPO



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-145038

(43) 公開日 平成7年(1995)6月6日

(51) Int. Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K	9/127	F		
	9/00	H		
	9/107	A		
	47/16	D		

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願平5-296932	(71) 出願人	000109543 テルモ株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目44番1号
(22) 出願日	平成5年(1993)11月26日	(72) 発明者	川原 一夫 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内
		(72) 発明者	内山 英樹 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内
		(72) 発明者	真田 邦雄 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内

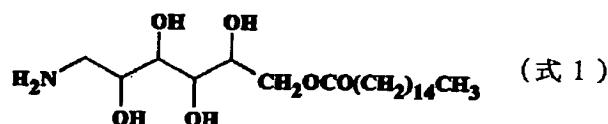
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 閉鎖小胞膜構成成分

(57) 【要約】

【構成】 下記式にその構造を示すパルミチン酸グルカミンエステルなどのカチオン性で、糖鎖を認識するリセプターおよび酵素、レクチン様蛋白に認識しない親水性部を有し、かつ他端に疎水性部を有するリポソームなどの膜構成成分。

【化1】



【効果】 血中滞留性および血管内皮損傷部位集積性に優れ、肝臓への集積および毒性が少ない。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】1分子内の一端に1つ以上のカチオン性残基および1つ以上の親水基を有し、かつ糖鎖を認識するリセプターおよび酵素、レクチン様蛋白に認識されることのない親水性部を有し、かつ他端に疎水性部を有することを特徴とする閉鎖小胞膜構成成分。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、閉鎖小胞膜構成成分に関するものである。また、本発明は、前記閉鎖小胞膜構成成分を含有し、その内部に血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物を封入していることを特徴とする薬物担体に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】近年、リポソーム、エマルジョン、リビッドマイクロスフェアなどの閉鎖小胞を薬物担体としてドラッグデリバリーシステムに応用しようとする研究が盛んに行われるようになってきている。これら閉鎖小胞は一般的にリン脂質あるいはその誘導体、またステロールやリン脂質以外の脂質等を基本膜構成成分として調製される。しかしながら、これら基本構成成分のみでは、閉鎖小胞同志の凝集、体内における滞留性の低下などの実際に応用していくうえでの様々な面での困難を克服することはできなかった。さらに、実際にDDS製剤として目的の部位に薬物を到達させることは非常に困難であった。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、鋭意研究を行った結果、閉鎖小胞の表面に生理的pH範囲で陽電荷を帯びる残基を保持させると、閉鎖小胞の血管内皮損傷部位への集積性が飛躍的に向上することを見出した。また、陽電荷を帯びた残基が結合した小胞表面に親水性高分子を結合させた場合において、このような高分子が表面に結合しても閉鎖小胞の血管内皮損傷部位への集積性はまったく阻害されず、一方で、閉鎖小胞の血液中での凝集の防止による血液中での安定性の確保ならびにRES補足の回避による血中滞留性の向上が可能になることを見出した。

【0004】しかしながら、これまでは、陽電荷を帯びる残基を有する膜構成成分はステアシルアミンあるいはグルコサミン誘導体などがわずかながら開示されているだけであったが、ステアシルアミンは毒性が高く、そのような素材としての利用は困難であり、一方グルコサミンやガラクトサミンなどの天然の糖鎖をこのような陽電荷を帯びる残基として用いた場合、生体はこのような糖鎖を特異認識するリセプターや、酵素、レクチン様蛋白などを持つため、特にこれらの残基が小胞体の表面部に十分に露出するように該構成成分を設計した場合、これらの各種リセプターや、酵素、レクチン様蛋白などとの相互作用により体内動態が左右され、目的とする部位へ

の誘導が十分に行えなくなる可能性を有している。したがって、閉鎖小胞体に高い正のゼータ電位をもたらし得、毒性が低く、かつ特定のレセプター、酵素、レクチン様蛋白などに認識されることのない実用的なカチオン性膜構成成分の供給が求められる。

【0005】したがって、本発明の目的は、閉鎖小胞膜表面に陽電荷をもたらす、閉鎖小胞内への薬物の封入率の向上、閉鎖小胞の血管内皮損傷部位へのターゲティング性の向上などの効果を与え、毒性の低い、かつ糖鎖を認識するリセプターおよび酵素、レクチン様蛋白などに認識されることのない閉鎖小胞膜構成成分を供給することにある。さらに、上記閉鎖小胞膜構成成分を含有し、その内部に血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物を封入していることを特徴とする薬物担体を供給することにある。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】上記目的は以下の本発明によって解決される。

(1) 1分子内の一端に1つ以上のカチオン性残基および1つ以上の親水基を有し、かつ糖鎖を認識するリセプターおよび酵素、レクチン様蛋白に認識されることのない親水性部を有し、かつ他端に疎水性部を有することを特徴とする閉鎖小胞膜構成成分。

(2) 前記カチオン性残基が1つ以上の脂肪族第一、二級アミノ基、アミジノ基、芳香族第一、二級アミノ基である上記(1)に記載の閉鎖小胞膜構成成分。

(3) 前記親水基が水酸基である上記(1)に記載の閉鎖小胞膜構成成分。

(4) 前記疎水性部が長鎖脂肪酸、長鎖脂肪族アルコール、ステロール、ポリオキシプロピレンアルキル、またはグリセリン脂肪酸エステルである上記(1)に記載の閉鎖小胞膜構成成分。

【0007】(5) 上記(1)に記載の閉鎖小胞膜構成成分を含有し、その内部に血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物を封入していることを特徴とする薬物担体。

(6) 粒径が0.02~250 $\mu\text{m}$ の大きさを有する微小粒子よりなる上記(5)に記載の薬物担体。

(7) 前記薬物担体が巨大分子、微集合体、微粒子、微小球、ナノ小球、リポソームおよびエマルジョンのうちの少なくとも1つからなる上記(5)に記載の薬物担体。

(8) 前記薬物担体がリン脂質あるいはその誘導体、および/またはリン脂質以外の脂質あるいはその誘導体、および/または安定化剤、および/または酸化防止剤、および/またはその他の表面修飾剤を含有する上記(5)に記載の薬物担体。

【0008】(9) 前記血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物が、電気的に中性あるいはアニオン性である上記(5)に記載の薬物担体。

(10) 前記血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物が、抗炎症剤、抗癌剤、酵素剤、抗生物質、酸化剤、脂質取り込み阻害剤、ホルモン剤、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、平滑筋細胞の増殖・遊走阻害剤、血小板凝集阻害剤、ケミカルメディエーターの遊離抑制剤、あるいは血管内皮細胞の増殖または抑制剤である上記(5)に記載の薬物担体。

(11) 前記血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物が、グリコサミノグリカン及びその誘導体である上記(5)に記載の薬物担体。

(12) 前記血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物が、オリゴおよび多糖およびそれらの誘導体である上記(5)に記載の薬物担体。

(13) 前記血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物が、X線造影剤、核医学的診断薬である放射性同位元素標識化合物、あるいは磁気共鳴診断用診断薬及びそれらの誘導体である上記(5)に記載の薬物担体。

【0009】本発明者らは、血管内皮損傷部位への集積性が高いカチオン性閉鎖小胞について、主として、アミノ糖のような糖鎖による修飾手段により研究を進めるうちに、これら糖鎖骨格に基づく生体認識機構による特定臓器への集積性も同時に避けられない問題となった。血管内皮損傷部位へのさらなる集積性の向上のために、上記のような臓器親和性の極力少ない成分について種々検討していくうちに、閉鎖小胞膜表面に十分な陽電荷を与え、なおかつ低毒性であり、さらに各種レセプター等に認識されない、一端に1つ以上のカチオン性残基を有しなおかつ1つ以上の親水基を有する親水性部があり、他端に疎水性部を有する化合物を見だし本発明を完成した。

【0010】従って、上記目的に沿う本発明は、一端に1つ以上のカチオン性残基および1つ以上の親水基を有し、かつ糖鎖を認識するレセプターおよび酵素、レクチン様蛋白に認識されることのない親水性部を有し、かつ他端に疎水性部を有することを特徴とする閉鎖小胞膜構成成分である。さらに、当該閉鎖小胞膜構成成分を含有し、その内部に血管内皮損傷部位を診断・治療するための薬物を封入していることを特徴とする薬物担体である。

【0011】本発明の閉鎖小胞膜構成成分は、その構造が、1分子内の一端に1つ以上のカチオン性残基及び1つ以上の親水基を有する親水性部を有し、かつ他端に疎水性部を有する。疎水性部、カチオン性親水性部は、共有結合してなる場合が最も望ましい。

【0012】カチオン性残基は、生理的pH範囲で陽電荷を帯び、なおかつ薬物担体の構造の安定性を損なうものでなければ特に限定されるものではない。例えば、脂肪族第一、二級アミノ基、アミジノ基、芳香族第一、二級アミノ基などが挙げられる。生理的pH範囲とは、生

体内、主に血液中、細胞質およびそこに存在するオルガネラ内部等のpH範囲であり、具体的にはpH4~10、好ましくはpH6~8である。親水基も特に限定されるものではないが、水酸基が好ましい。

【0013】疎水性部も、薬物担体の構造安定性を損なうものでなければ特に限定されるものではない。疎水性部の構造としては様々なものが考えられるが、長鎖脂肪族アルコール、ステロール、ポリオキシプロピレンアルキル、またはグリセリン脂肪酸エステルなどがある。また、鎖状構造からなる場合、その鎖長及び鎖数については、上記のカチオン性残基を有する親水性部との組み合わせにおいて適宜選択される。

【0014】本発明の閉鎖小胞膜構成成分を用いた薬物担体は、粒径が0.02~250 $\mu$ m、とりわけ0.05~0.4 $\mu$ mが好ましい。また、構造としては様々な形態が考えられるが、特にその内部に薬物を高濃度封入することのできる潜在的機能を有する1またはそれ以上の巨大分子、微集合体、微粒子、微小球、ナノ小球、リボソームおよびエマルジョンが最も望ましい。また、各々は常法によって製造される。

【0015】その形態において、これら以外の構成成分としては、閉鎖小胞を形成するのであれば特にその配合に限定する必要はないが、その安全性や、生体内において安定な薬物担体を提供する観点から、リン脂質あるいはその誘導体、リン脂質以外の脂質あるいはその誘導体、安定化剤、酸化防止剤等の配合が望ましい。さらには、陽電荷を持たない親水性高分子誘導体の添加も必要に応じて当然可能である。

【0016】薬物担体の内部に含有する物質は、特に限定されるべきものではないが、カチオン性を有する薬物担体の血管内皮損傷部位へのターゲッティング性を考え併せると、血管内皮損傷部位の診断・治療目的に応じて薬学的に許容し得る薬理的活性物質、生理的活性物質または診断用物質を用いることが最も望ましい。封入する物質の性質として、基本的にはどの物質においても問題ないが、薬物担体の表面が陽電荷を持つ特徴から、電気的に中性あるいはアニオン性である物質の方が高封入率が期待できる。

【0017】封入する物質の種類としては、閉鎖小胞の形成を損ねないかぎり特に限定されるものではなく、血管内皮損傷部位における様々の反応を抑制し、正常な血管組織へ誘導する薬物あるいは血管内皮損傷部位を造影・診断できる薬物であれば何等の制限なく使用できる。一例としては、抗炎症剤、抗癌剤、酵素剤、抗生物質、酸化剤、脂質取り込み阻害剤、ホルモン剤、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、平滑筋細胞の増殖・遊走阻害剤、血小板凝集阻害剤、ケミカルメディエーターの遊離抑制剤、血管内皮細胞の増殖促進または抑制剤あるいは血管造影剤などが考えられる。特にヘパリンなどの硫酸化グリコサミノグリカン、オリゴおよび多糖およびそれら

の誘導体は血管内皮損傷部位において血管肥厚の原因である平滑筋細胞の増殖・遊走を阻害する物質として有効である。

【0018】しかし基本的には本発明の薬物担体は、血管内皮損傷部位に集積する性質を持つものであるから、その部位の疾患の特徴に応じて、それに最適な薬物を選択することにおいて何等の制限はない。特に傷害部位では、血小板の活性化が起こり易く、また各種白血球の集積が認められ様々のケミカルメディエーターを放出して炎症反応を引き起こしている。またこれら組織では、脂質の過酸化や、脂質取り込みの亢進が起こることもよく知られており、これら反応が複合的に進行して動脈硬化性の病変を引き起こすものと考えられる。これらの現象の病変形成への寄与は症例毎に各々異なると予想されることから、これらの症状へ対応した薬物は全て本薬物担体の対象とする事ができることは言うまでもない。

【0019】また治療に先立ってこれら血管障害部の存在を明らかにし、その部位、大きさ、などを明らかにしうる体内診断用の各種化合物たとえば、X線造影剤、核医学的診断薬である放射性同位元素標識化合物、あるいは磁気共鳴診断用診断薬及びそれらの誘導体などを本薬物担体の対象とすることができることも言うまでもない。

#### 【0020】

【実施例】次に、実施例および試験例を示して本発明をより具体的に説明する。

#### （実施例1）パルミチン酸グルカミンエステルの合成

##### ① D-グルカミンのN-Z化反応

D-グルカミン3.62g (20.0mmol) を水20mlとテトラヒドロフラン20mlの混合溶媒に溶かし、そこへ炭酸カリウム3.31g (24.0mmol) を加えて溶かした。反応容器を0℃に保ち、ベンジルオキシカルボニルクロリド(ZC1) 2.86ml (20.0mmol) をテトラヒドロフラン10mlに溶かした溶液を15分間かけて滴下し、そのまま3時間かき混ぜた。析出した沈殿を吸引ろ取し、テトラヒドロフラン3mlで2回洗浄した後、メタノール-クロロホルムを再結晶溶媒としてN-ベンジルオキシカルボニルグルカミンを得た。

【0021】収量：5.72g (約90.8%)

IR ( $\nu_{\text{cm}^{-1}}$ ) : 3500-3200 (O-H) 、 3450 (N-H)

1650 (C=O)

<sup>1</sup>H-NMR ( $\delta$  ppm) : 3.3 (b s, N-CH<sub>2</sub>- × 2)

3.5-4.0 (m, HO-CH- × 8)

5.1 (s, Ar-CH<sub>2</sub>- × 2)

7.9 (s, Ar-H- × 5)

【0022】② N-Z化グルカミンとパルミトイルクロリドを用いた1級選択的エステル化反応

N-Z化グルカミン3.15g (10.0mmol) をビリジ 50

ン50mlに溶かし、氷冷下かき混ぜながらパルミトイルクロリド2.80g (10.2mmol) を10分かけてゆっくり滴下した。3時間反応した後、水500mlで希釈し、4規定塩酸で溶液を中和した後、クロロホルム150mlで3回抽出した。抽出液を合わせ、飽和食塩水100mlで2回洗浄し、有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を留去した後、残留物をメタノール-クロロホルム溶媒から再結晶し、パルミチン酸のN-Z化グルカミンエステルを得た。

10 【0023】収量：4.63g (約83.6%)

IR ( $\nu_{\text{cm}^{-1}}$ ) : 3500-3200 (O-H) 、 3450 (N-H)

1730 (C=O) 、 1650 (C=O)

<sup>1</sup>H-NMR ( $\delta$  ppm) : 1.2 (s, -CH<sub>2</sub>- × 2)

3.3-4.2 (m, HO-CH- × 8)

5.1 (s, Ar-CH<sub>2</sub>- × 2)

7.4 (s, Ar-H- × 5)

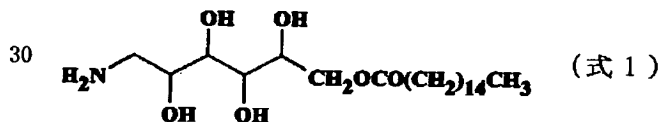
【0024】③ パルミチン酸グルカミンエステルの合成

20 パルミチン酸のN-Z化グルカミンエステル4.0g

(7.23mmol) をメタノール：クロロホルム=10：1溶液100mlに溶かし、パラジウム炭素(10%) (ナカライテスク社製) 1gを加えて1昼夜水素添加を行った。反応後溶媒をろ過し、ロ液から溶媒を留去し、下記式1にその構造を示すパルミチン酸グルカミンエステルを得た。

【0025】

【化1】



【0026】収量：4.63g (約83.6%)

IR ( $\nu_{\text{cm}^{-1}}$ ) : 3500-3200 (O-H) 、 3380 (N-H)

3180 (N-H) 、 1730 (C=O)

<sup>1</sup>H-NMR ( $\delta$  ppm) : 1.2 (s, -CH<sub>2</sub>- × 2)

2.8 (b s, NH<sub>2</sub>- × 2)

3.3-4.2 (m, HO-CH- × 8)

【0027】（実施例2）パルミチン酸グルカミンエステルを膜構成成分として含有するリボソームの調製

下記3種類の膜構成成分を、それぞれクロロホルム溶液として容積50mlのナス型フラスコに加え、混合した。

・フォスファチジルコリン (濃度100mM) : 840  $\mu$ l

・コレステロール (濃度100mM) : 240  $\mu$ l

・パルミチン酸グルカミンエステル (10mM) : 1200  $\mu$ l

【0028】さらに、クロロホルム10mlを加えた。クロロホルムを留去した後、一晚真空乾燥することにより

フラスコ内壁に脂質薄膜を形成した。次いで、100  $\mu$ gのヘパリンを溶解させた300mM ソルビトール/10mM Tris-HCl緩衝液4mlをフラスコ内に加え、激しく浸盪攪拌することにより、リポソーム (MLV) 分散液を得た。

【0029】この分散液を遠心分離 (120,000g、70分間) した。上清をデカンテーションし、未封入のヘパリンを除去することにより、リポソームのペレットを得た。このペレットを300mM ソルビトール/10mM Tris-HClに分散することにより、ヘパリンを保持した標記のリポソーム分散液を得た。

【0030】(試験例) 次に、本発明の効果を調べるために行った試験例を示す。

#### (試験例1) 封入率の測定

<方法>実施例2において使用したヘパリンのリポソーム中への封入率を次の様にして求めた。まず、遠心分離した後の上清中におけるヘパリン量をカルパゾール法で定量することにより、リポソーム中に封入されなかったヘパリン量を求めた。これをリポソーム調製にあたって最初に添加したヘパリンの総量と比較することにより、リポソーム中へのヘパリンの封入率を求めた。比較のために、パルミチン酸グルカミンエステルを用いることなく上記実施例2と同様の方法で調製したリポソーム分散液を調製した。そして、上記と同様の方法でヘパリンの封入率を求めた。

【0031】<結果>表1に示す。

【0032】

【表1】

表1

リポソーム分散液	封入率 [%]
①	43.2
②	17.6

【0033】以上の結果から明らかなとおり、本発明の閉鎖小胞膜構成成分を含む薬物担体はこれを含まない中性薬物担体と比べて、ヘパリンの高い封入率を示した。

#### 【0034】(試験例2) 体内動態 (1)

<方法>ウレタンで麻酔されたSD雄ラットの大腿静脈より、実施例2に準じて調製された100mM カルボキシフルレッシン (Carboxyfluorescein) を封入させたリポソーム分散液500  $\mu$ lを静注した。経時的に血液をエッペンドルフチューブに採取した。採取した血液について蛍光強度を測定することにより、体内動態を測定した。また、比較のために、パルミチン酸グルカミンエステルを用いることなく、上記実施例2に準じて調製されたリポソーム分散液について、上記と同様の方法で体内動態を測定した。

【0035】<結果>図1に示す。以上の結果から明らかなとおり、本発明の閉鎖小胞膜構成成分を含有せしめた薬物担体はそれを含わない薬物担体と比べて、血中

滞留性が高いことが確認された。

#### 【0036】(試験例3) 体内動態 (2)

<方法>ウレタンで麻酔されたSD雄ラットの大腿動脈から2フレンチのバルーンカテーテルを挿入し、頸動脈部を5回擦過することにより、血管内皮障害モデルを作成した。大腿静脈より、実施例2に準じて調製された100mM Carboxyfluoresceinを封入させたリポソーム分散液500  $\mu$ lを静注した。3時間後にラットの頸動脈を採取した。採取した頸動脈からCarboxyfluoresceinを抽出し、蛍光強度を測定することにより頸動脈へのリポソームの分布状況を測定した。

【0037】さらに、頸動脈部を擦過しないラットについても、大腿静脈より、実施例2に準じて調製された100mM Carboxyfluoresceinを封入させたリポソーム分散液500  $\mu$ lを静注した後、上記と同様の方法で頸動脈へのリポソームの分布状況を測定した。比較のために、パルミチン酸グルカミンエステルを用いることなく上記実施例2に準じて調製されたリポソーム分散液について上記と同様の方法で頸動脈へのリポソームの分布状況を測定した。

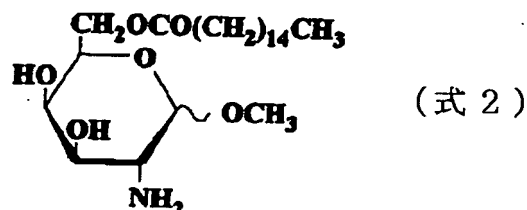
【0038】<結果>図2に示す。以上の結果から明らかなとおり、本発明の閉鎖小胞膜構成成分を膜構成成分として含有せしめた本発明の薬物担体は、それを含有しない薬物担体と比べて血管内皮損傷部位への集積性が高く、また、血管内皮が損傷していない場合は比較対照と同程度の集積性を示している。したがって、本発明の薬物担体は血管内皮損傷部位へのターゲティング性に優れている。

#### 【0039】(試験例4) 臓器分布 (3)

<方法>ウレタンで麻酔されたSD雄ラットの大腿静脈より、実施例2に準じて調製された100mM Carboxyfluorescein を封入させたリポソーム分散液500  $\mu$ lを静注した。3時間後に肝臓を摘出した。摘出した臓器から Carboxyfluoresceinを抽出し、蛍光強度を測定することにより肝臓へのリポソームの分布状況を測定した。比較のために、パルミチン酸グルカミンエステルの代わりに下記式2にその構造を示す6- $\alpha$ -パルミチルルーメチル-D-ガラクトサミドを用いて上記実施例4に準じて調製されたリポソーム分散液について上記と同様の方法で肝臓へのリポソームの分布状況を測定した。

【0040】

【化2】



【0041】<結果>図3に示す。以上の結果から明らかなとおり、本発明の閉鎖小胞膜構成成分を膜構成成分

分として含有せしめた本発明の薬物担体は、糖鎖構造を有する膜構成成分を含有せしめた場合と比較して、肝臓への分布量が低く抑えられていることがわかる。さらに、その分子内に親水性高分子を有する場合にはさらに著しく分布量が低下している。これは膜構成成分の表面構造として、糖鎖構造を有していないことによる肝臓のレセプター回避効果及び親水性高分子を有することによる回避の効果が表れていることを示していると考えられ、したがって、本発明の膜構成成分を含有する薬物担体は特定のレセプターに認識されることなく、また、親水性高分子を含有する場合にはさらにRES回避性に優れている。

#### 【0042】(試験例5) 急性毒性

この試験の目的は、本発明の薬物担体の毒性が、従来のものの毒性と比較してどの程度であるかを知ることである。そのために、薬物未封入の状態で調製された本発明の薬物担体と従来の薬物担体のそれぞれについて、ラットに対する致死毒性試験を行った。

#### 【0043】<被験液の調製>

① パルミチン酸グルカミンエステルを含有する本発明のリポソーム分散液

\*

表 2

被験物質	投与量 ml/kg	死亡個体数			15日目迄 の死亡総数
		当日	1日目	2日目以降	
①	0.3	0/3	0/3	0/3	0/3
	1.0	0/3	0/3	0/3	0/3
	3.0	0/3	0/3	0/3	0/3
	10.0	0/3	0/3	0/3	0/3
②	0.3	0/3	0/3	0/3	0/3
	1.0	0/3	0/3	1/3	1/3
	3.0	0/3	0/3	1/3	1/3
	10.0	0/3	1/3	1/3	2/3
③	10.0ml	0/3	0/3	0/3	0/3

【0046】なお、表中における被験物質の欄の記号は次のとおりである。

①パルミチン酸グルカミンエステル含有リポソーム

②従来の中性リポソーム分散液

③溶媒対照(生理食塩水)

【0047】上記の試験結果に示したように、本発明の薬物担体については、観察期間中死亡例はなかった。また、カチオン性膜材及び親水性高分子誘導体を別々で用いた薬物担体についても観察期間中死亡例はなかった。しかし、従来の薬物担体においては、投与開始後1日から体重が激減し、15日目までに表中に示した様に大半が死亡した。これはその後の臓器所見から、従来の薬物担体では血液中において血球成分等と会合あるいはリ

\*ヘパリンを加えなかった点を除き、実施例4と同様の方法で、パルミチン酸グルカミンエステルを含有するリポソーム分散液を得た。これを限外ろ過膜を用いて濃縮し、さらに必要に応じて注射用滅菌蒸留水で希釈して被験液とした。

#### ② 従来のリポソーム分散液

比較のために、パルミチン酸グルカミンエステルを用いることなく、実施例2と同様の方法で中性リポソーム分散液を得た。これを限外ろ過膜を用いて濃縮し、さらに必要に応じて注射用滅菌蒸留水で希釈して被験液とした。

【0044】<方法>検疫した5週齢のSD雄性ラットを1群3匹に区分し、腹腔内に上記の被験液2.0mlを1回投与した。一方、溶媒対照群として、滅菌蒸留水2.0mlを投与した。被験液投与後、16日間にわたって少なくとも1日1回、注意深く一般状態を観察して毒性徴候、死亡状況を記録した。

<結果>表2に示す。

#### 【0045】

【表2】

ポソーム同士の会合により、血中に凝集塊が生成され、肺などに塞栓を形成してしまうことが原因であることが確認された。この結果から、本発明の閉鎖小胞膜構成成分を含有する薬物担体は、極めて毒性が低く、安全性の高いものであると言える。

#### 【0048】

【発明の効果】以上、詳細に説明したように、本発明の閉鎖小胞膜構成成分を含有せしめた薬物担体は、カチオン性膜材及び親水性高分子誘導体をそれぞれ個別に用いた場合と同様、中性あるいはアニオン性の物質の封入率が高く、また、血管内皮損傷部位へのターゲティング性が非常に高い。また、安全性も非常に高い。このような特徴から、薬学的に許容し得る薬理的活性物質、生理

的活性物質または診断用物質を封入させた本発明の新規薬物担体は、血管内皮損傷部位における診断及び治療という目的に対して非常に効果的である。例えば、ヘパリン、多糖類およびその硫酸化体を封入した場合は、血管内皮が損傷した部位における平滑筋細胞の遊走を抑える血管肥厚防止薬として有用である。

【図面の簡単な説明】

\* 【図1】試験例2の体内動態試験結果である。本発明の薬物担体などの血中滞留性を示す。

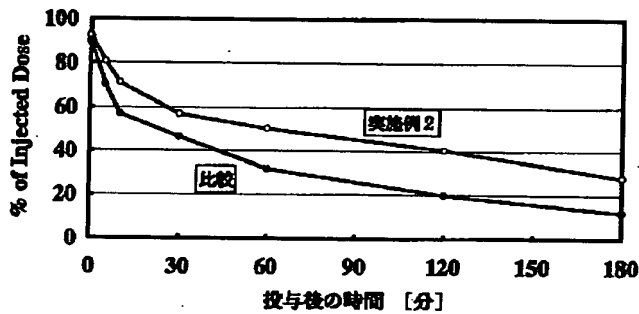
【図2】試験例3の体内動態試験結果である。本発明の薬物担体などの血管内皮損傷部位集積性を示す。

【図3】試験例4の体内動態試験結果である。本発明の薬物担体などの肝臓への分布を示す。

\*

【図1】

図1 体内動態(1) 血中滞留性



【図2】

図2 体内動態(2) 血管内皮損傷部位集積性

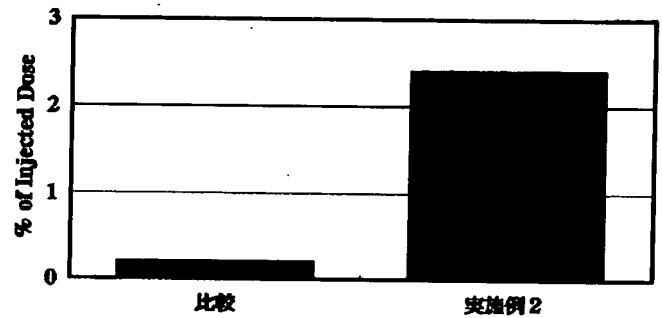
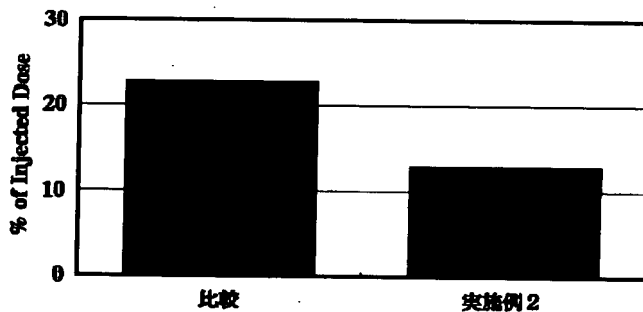


図3 体内動態(3) 肝臓への分布



フロントページの続き

(72)発明者 川西 徹朗

神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地  
テルモ株式会社内

※(72)発明者 木村 順治

神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地  
テルモ株式会社内

40

※